

## 苦参碱脂质立方液晶纳米粒凝胶的制备及体外评价

斯琴, 高慧敏, 李春, 王智民, 沈硕, 闫利华, 郭凤倩, 向定华,  
王萍, 符德静, 刘晓谦\*, 易红\*

(中国中医科学院中药研究所中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700)

**[摘要]** 目的:制备苦参碱脂质立方液晶纳米粒(MAT-LLCN)凝胶并考察其体外释放规律与经皮吸收行为。方法:以包封率为指标,在明确单油酸甘油酯(GMO)与泊洛沙姆407(P407)最佳比例的基础上,以极端顶点混料设计法筛选 MAT-LLCN 最佳处方,并对其载药量进行考察。以预溶胀的卡波姆940为凝胶基质,与 MAT-LLCN 混合均匀,制得 MAT-LLCN 凝胶。采用偏光显微镜(PLM)及小角X射线散射(SAXS)对 MAT 脂质立方液晶(MAT-LLC)进行结构表征。采用改良 Franz 扩散池法比较 MAT-LLCN 凝胶及其普通凝胶的体外释放及透皮吸收特性,通过苏木素-伊红(HE)染色观察二者作用于皮肤不同时间所引起的皮肤结构变化情况。结果:MAT-LLCN 凝胶最佳处方为 GMO-P407(9:1)质量分数 5.5%,MAT 质量分数 1%~6%,卡波姆 940 0.6%,加水至足量。制得的 MAT-LLC 为体心型 LLC。制备的 MAT-LLCN 凝胶体外释放符合 Weibull 方程( $R^2=0.9540$ ),释药机制为 Fick 扩散。体外透皮试验显示, MAT-LLCN 凝胶中 MAT 的累积释放率、稳态释放速率及大鼠皮肤滞留量均明显高于普通凝胶( $P<0.05$ )。皮肤 HE 染色结果表明, MAT-LLCN 凝胶能够使皮肤角质层细胞排列疏松,同时能够维持真皮层细胞结构的稳定。结论:制得的 MAT-LLCN 凝胶可通过快速打开皮肤角质层屏障,加快药物跨皮肤转运,并在真皮层中形成药物贮库,提示 LLC 在药物经皮给药领域具有良好的应用前景。

**[关键词]** 苦参碱; 立方液晶纳米粒; 凝胶; 极端顶点混料设计; 体外释放; 体外透皮; 滞留量

**[中图分类号]** R22;R28;R94;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)02-0027-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220646 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220610.1709.006.html>

**[网络出版日期]** 2022-06-11 16:35

### Preparation and *in Vitro* Evaluation of Matrine Lipid-based Cubic Liquid Crystalline Nanoparticle Gels

SI Qin, GAO Huimin, LI Chun, WANG Zhimin, SHEN Shuo, YAN Lihua, GUO Fengqian,  
XIANG Dinghua, WANG Ping, FU Dejing, LIU Xiaoqian\*, YI Hong\*

(National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Materia Medica,  
Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare matrine lipid-based cubic liquid crystalline nanoparticle (MAT-LLCN) gels and investigate its *in vitro* release and transdermal absorption behavior. **Method:** Taking entrapment efficiency as the index, the optimal formulation of MAT-LLCN was screened by extreme vertex mixture method based on the optimal ratio of glycerol monooleate (GMO) to poloxamer 407 (P407), and its drug loading was investigated. MAT-LLCN gels was prepared by mixing MAT-LLCN with pre-swelled carbomer 940 as the gel matrix. The structure of MAT-lipid-based cubic liquid crystalline (LLC) was characterized by polarized light microscopy (PLM) and small angle X-ray scattering (SAXS). The *in vitro* release and

**[收稿日期]** 2022-03-12

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2017YFC1701900);中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A04308)

**[第一作者]** 斯琴,在读硕士,从事中药新剂型研究,E-mail:1051711927@qq.com

**[通信作者]** \* 刘晓谦,博士,研究员,从事中药制剂及质量评价研究,Tel/Fax:010-84014128,E-mail:lianyu1127@126.com;

\* 易红,研究员,从事中药新型制剂及质量评价研究,E-mail:yihong@sina.com

transdermal absorption properties of MAT-LLCN gels and MAT ordinary gels were compared by modified Franz diffusion cell method, skin structure changes caused by them were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. **Result:** The optimal formulation of MAT-LLCN gels was 5.5% of GMO-P407 (9:1), 1%-6% of MAT, 0.6% of carbomer 940, adding water to sufficient amount. The prepared MAT-LLC was confirmed as body-centered (Im3m) LLC. The *in vitro* release behavior of MAT-LLCN gels was in accordance with the Weibull equation ( $R^2=0.9540$ ), and the release mechanism was the Fick diffusion. *In vitro* transdermal test showed that all the parameters of MAT-LLCN gels were higher than those of MAT ordinary gels ( $P<0.05$ ), including cumulative release rate, steady-state release rate and the amount of drug retention in skin. HE staining results showed that MAT-LLCN gels could loose the cellular arrangement of skin stratum corneum, and maintain the stability of the cell structure of the dermis. **Conclusion:** The prepared MAT-LLCN gels can accelerate the transdermal drug transport and form drug storage in the dermis by rapidly opening the skin stratum corneum barrier, suggesting that LLC has good application prospects in the field of transdermal drug delivery.

**[Keywords]** matrine; cubic liquid crystalline nanoparticles; gels; extreme vertex mixture design; *in vitro* release; *in vitro* transdermal; retention

苦参碱(MAT)为喹诺里西啶类生物碱,分子骨架为2个喹啉啶环的稠合体<sup>[1-2]</sup>,临床常用于白血病<sup>[3]</sup>、消化道及泌尿系统肿瘤<sup>[4]</sup>、慢性乙型肝炎<sup>[5]</sup>、皮肤病的治疗。近年来关于其治疗皮肤类疾病的现代药理报道日益增多,如治疗增生性瘢痕<sup>[6]</sup>、皮肤癌<sup>[7]</sup>及各类皮肤炎症<sup>[8-9]</sup>等,由于上述疾病均具有皮肤局部病灶的特点,提示MAT在外用药领域具有广阔发展前景。通过检索国家药品监督管理局药品数据库,MAT类外用制剂仅苦参凝胶、苦参膜及MAT栓剂,均用于治疗阴道炎,尚无治疗皮肤疾病的外用制剂上市,究其原因可能与此类成分碱性较强,对基质挑战较大,且容易受载药量的限制有关。关于MAT新型制剂的研究主要有脂质体<sup>[10]</sup>、醇质体<sup>[11]</sup>、微球<sup>[12]</sup>及磷脂复合物<sup>[13]</sup>等,均以口服制剂或注射剂形式给药,在经皮给药方面,有关于微乳凝胶<sup>[14]</sup>及传递体<sup>[15]</sup>的零星报道,但上述2种制剂处方中均含有较多表面活性剂,具有一定的刺激性。因此,探索适宜的生物相容性好的MAT外用制剂具有迫切的现实意义和良好的应用前景。

脂质立方液晶纳米粒(LLCN)是一类两亲性脂质在水中自发组装形成的含双连续水区和脂质区的闭合脂质双层“蜂窝状(海绵状)”结构的液晶体系<sup>[16]</sup>。其内部结构与生物膜脂质排列相似,外观为凝胶状,生物黏附性好。国内外研究均表明,LLCN可显著提高经皮给药剂剂的皮肤渗透性<sup>[17]</sup>,增加其在皮肤尤其是真皮层的药物滞留量,形成较高浓度的药物贮库,从而更好地发挥局部乃至全身的治疗作用。已有实验研究证实,MAT-LLCN相较于其脂质体及水溶液剂型,具有较好的透皮效果,相应产

生的治疗效果也更好<sup>[18]</sup>。但上述研究主要集中于药效评价,透皮机制的研究不够深入且未系统开展其制剂适宜性研究。此外,鉴于纳米粒通常黏度偏低,不利于药物在皮肤患病部位贮留,因此,本实验拟制备一种MAT-LLCN凝胶,改善其皮肤滞留性,并对MAT-LLCN凝胶处方、制备工艺及体外释放行为进行系统研究,进一步探讨LLCN凝胶在经皮给药系统应用的适宜性,为丰富MAT经皮给药新剂型提供借鉴。

## 1 材料

SYSTEM 918-12型干加热透皮扩散系统(美国LOGAN公司,包括DHC-6TD型干加热透皮扩散仪、SCR-DL型样品收集器、DSC-800型自动取样控制器),e2695型高效液相色谱仪(美国沃特世公司),Zetasizer Nano ZS90型激光粒度仪(英国马尔文仪器有限公司),SAXSess mc2型小角X-射线散射仪和Physica MCR102型流变仪(奥地利安东帕有限公司),Delta320型pH计[瑞士梅特勒-托利多公司],BSA224S-CW型1/1万电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],JN-Mini Pro型低温超高压均质机(广州聚能纳米生物科技股份有限公司),H1850型台式高速离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司),90-5型恒温强磁力搅拌器(上海振荣科学仪器有限公司),JJ-12J型生物组织脱水机和JB-L5型冻台(武汉俊杰电子有限公司),KD-BM型生物组织冷冻包埋机和KD-P型组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司),RM2016型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司),GFL-230型烤箱(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司),Eclipse E100型正

置光学显微镜[尼康仪器(上海)有限公司], Panoramic Midi型全景扫描成像系统(匈牙利3DHISTECH公司)。

干型透析袋[赛谱锐思(北京)科技有限公司, 截留相对分子质量3.5 kDa], MAT对照品(中国食品药品检定研究院, 批号14112608, 纯度 $\geq 99.22\%$ ), MAT原料药(陕西林洲生物科技有限公司, 批号2020110502, 纯度 $>90\%$ ), 泊洛沙姆407(P407, 德国BASF公司, 批号200505), 单油酸甘油酯(GMO, 美国Danisco公司, 批号4013619662), 苏木素-伊红(HE)染液(武汉谷歌生物科技有限公司, 批号2107040), 水为娃哈哈纯净水或去离子水, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂为分析纯。

雄性SPF级SD大鼠, 体质量180~220 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号SCXK(京)2021-0011。本实验所涉及动物实验经中国中医科学院中药研究所实验动物伦理委员会批准, 批准号2022B071。

## 2 方法与结果

### 2.1 MAT的含量测定

**2.1.1 色谱条件<sup>[19]</sup>** 采用Welch Xtimate C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相乙腈-0.02 mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾水溶液(6:94), 流速1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>, 柱温30  $^{\circ}$ C, 检测波长220 nm, 进样量10  $\mu$ L。

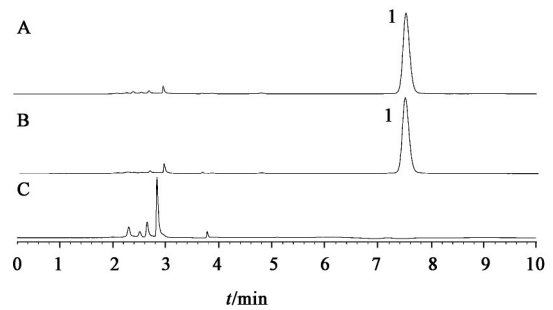
**2.1.2 对照品溶液的制备** 取MAT对照品适量, 精密称定, 置于10 mL量瓶中, 加甲醇使溶解并定容至刻度, 得1.919 g $\cdot$ L<sup>-1</sup> MAT对照品储备液, 4  $^{\circ}$ C低温避光保存, 备用。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 精密称取MAT-LLCN凝胶0.1 g, 置于25 mL量瓶中, 加入适量甲醇, 超声(250 W, 40 kHz)15 min使溶解, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.1.4 阴性样品溶液的制备** 取空白LLCN凝胶0.1 g, 精密称定, 置于25 mL量瓶中, 加入适量甲醇, 超声15 min使溶解, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.1.5 方法的专属性** 取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液适量, 按2.1.1项下色谱条件测定, 记录色谱图, 见图1。结果表明辅料对主峰无干扰, 说明该方法专属性良好。

**2.1.6 标准曲线绘制** 取MAT对照品储备液, 分别用甲醇稀释5、10、25、50倍, 得系列对照品溶液, 按2.1.1项下色谱条件测定, 记录峰面积。以峰面积(Y)对MAT质量浓度(X)进行线性回归, 得回归方



注:A.对照品;B.供试品;C.阴性样品;1.MAT

图1 MAT-LLCN凝胶的HPLC

Fig. 1 HPLC of MAT-LLCN gels

程 $Y=1\ 250\ 201X-4\ 381.695\ 8$  ( $R^2=1.000\ 0$ ), 线性范围0.038~1.919 g $\cdot$ L<sup>-1</sup>。

**2.1.7 精密度试验** 取同一供试品溶液, 按2.1.1项下条件连续进样6次, 计算MAT峰面积的相对标准偏差(RSD)1.0%, 表明仪器精密度良好。

**2.1.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于配制后0、2、4、6、8、12、24、48 h按2.1.1项下条件测定, 记录峰面积, 结果MAT峰面积的RSD 1.2%, 表明供试品溶液在室温条件下放置48 h稳定性良好。

**2.1.9 重复性试验** 取同一MAT-LLCN凝胶样品适量, 按2.1.3项下方法平行配制6份供试品溶液, 按2.1.1项下色谱条件测定, 计算样品中MAT平均质量分数41.725 9 mg $\cdot$ g<sup>-1</sup>, RSD 0.9%, 表明该方法重复性良好。

**2.1.10 加样回收试验** 取2.1.9项下MAT-LLCN凝胶6份, 每份0.05 g, 精密称定, 按质量比1:1的比例加入MAT对照品溶液, 按2.1.3项下方法制备供试品溶液, 按2.1.1项下色谱条件测定, 计算MAT加样回收率在99.3%~104.0%, RSD 1.7%, 表明该方法准确度良好, 实验数据见增强出版附加材料。

### 2.2 MAT-LLCN质量考察指标测定

**2.2.1 包封率** 采用超滤离心法测定样品包封率。取MAT-LLCN 2 g, 精密称定, 加水稀释至10 g, 精密称定, 600 r $\cdot$ min<sup>-1</sup>磁力搅拌30 min, 得稀释5倍样品。精密称取稀释后样品1 g, 置于截留相对分子质量10 kDa的超滤管中, 8 000 r $\cdot$ min<sup>-1</sup>离心20 min(离心半径9.6 cm), 取下层滤液, 用适量甲醇洗涤收集管, 合并滤液及洗涤液, 加甲醇定容至10 mL, 按2.1.1项下色谱条件测定滤液中MAT含量, 即游离药物含量( $W_{\text{游离}}$ )。药物总量为MAT-LLCN中测得的药物含量( $W_{\text{总质量}}$ ), 计算包封率, 公式为包封率= $(W_{\text{总质量}}-W_{\text{游离}})/W_{\text{总质量}}\times 100\%$ 。

**2.2.2 粒径** 取MAT-LLCN样品适量, 用去离子水

稀释100倍,移取样品1 mL,加入激光粒度仪样品池,25 °C条件下平衡3 min,测定样品粒径,每个样品平行测定3次。

**2.2.3 黏度** 取 MAT-LLCN 样品适量,于(20±0.1) °C、剪切速率 100 s<sup>-1</sup> 条件下采用旋转流变仪测定动力黏度。

**2.3 MAT-LLCN 的制备**<sup>[20]</sup> 利用脂质立方液晶(LLC)可以与过量水共存的特点<sup>[21]</sup>。称取处方量 GMO、P407 及 MAT 原料药,60 °C 加热搅拌至呈均匀的单相溶液,记作 A 相;取相同温度的纯净水适量(B相),缓慢加入 A 相中,以 600 r·min<sup>-1</sup> 磁力搅拌 2 h,得 MAT-LLC,继续加水至 50 g,搅拌均匀,超声破碎[功率 300 W,时间 2 min(工作 4 s、间隔 15 s)],即得 MAT-LLCN。

**2.3.1 GMO 与 P407 比例考察**<sup>[17-18,22-23]</sup> 制备 LLCN 常用的 GMO 与 P407 比例为 6:1~15:1,故在此范围内考察二者比例对 MAT-LLCN 包封率的影响。分别考察 GMO 与 P407 的比例为 6:1、9:1、15:1 时 LLCN 的成型性,结果发现 GMO-P407 在上述比例制得的样品均为白色乳状液,包封率分别为 82.62%±0.51%、88.18%±0.20%、79.02%±0.31%,其中 GMO-P407(9:1)时,样品包封率最高。

**2.3.2 MAT-LLC 纳米化工艺研究** 按 2.3 项下方法制备 MAT-LLCN,分别用超声破碎法[功率 300 W、时间 2 min(工作 5 s、间歇 5 s)]、高压均质法[压力为 1 200 bar(1 bar=0.1 MPa)、温度 4 °C、循环 6 次]制备 MAT-LLCN,见表 1。结果发现制得的样品均为白色黏稠乳状液,包封率无明显差异,但高压均质法制得的纳米粒粒径更小且该法更利于工业化生产,故选择高压均质法作为 MAT-LLC 的纳米化分散工艺。固定高压均质数为 6 次、温度 4 °C,分别考察压力为 800、1 200、1 600 bar 时对 MAT-LLCN 包封率及粒径的影响,见表 1。结果发现在不同均质压力条件下,包封率变化较小,综合考虑,确定均质压力 1 200 bar。固定高压均质压力 1 200 bar、温度 4 °C,考察不同均质次数对包封率和粒径的影响,循环数分别设置为 3、6、9 次,见表 1。结果发现在均质压力 1 200 bar 条件下循环次数对包封率的影响较小,但均质 6 次包封率相对较高且粒径更小,故选择循环数 6 次。但上述实验条件下制得的纳米粒粒径的多分散系数(PDI)偏大,提示粒径分布均匀性较差,故对均质温度进行考察,以改善 MAT-LLCN 的粒径均匀性。在常温下重复上述试验,得粒径更为均匀的 MAT-LLCN,其粒径为(136.30±1.46) nm,

PDI 为 0.111±0.002,表明提高温度有利于纳米粒分散,故后续实验改为常温进行。

表 1 MAT-LLC 纳米化工艺考察( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 1 Investigation of nanosizing process of MAT-LLC ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

方法	参数	平均粒径/nm	PDI	包封率/%
超声破碎	300 W、2 min	428.10±3.27	0.305±0.029	88.99±0.52
高压均质	800 bar、循环 6 次	309.50±14.32	0.591±0.591	83.44±0.13
	1 200 bar、循环 6 次	294.00±1.59	0.361±0.010	85.47±1.47
	1 600 bar、循环 6 次	257.90±1.23	0.368±0.010	81.82±0.08
	1 200 bar、循环 3 次	348.30±5.90	0.469±0.033	86.97±0.30
1 200 bar、循环 9 次	309.10±2.19	0.393±0.040	83.88±0.17	

## 2.4 混料均匀试验设计优化处方

**2.4.1 试验设计**<sup>[24-25]</sup> 采用混料均匀试验设计优化 MAT-LLCN 处方中各物料的比例,固定 GMO-P407(9:1),考察辅料 GMO+P407( $X_1$ )、MAT( $X_2$ )及水( $X_3$ )用量 3 个因素对包封率( $Y_1$ )、粒径( $Y_2$ )及黏度( $Y_3$ )的影响。根据单因素试验结果,将因素  $X_1$ 、 $X_2$  与  $X_3$  取值范围分别设置为 6%~14%、2%~10%、76%~92%。使用 Minitab 19 软件,采用三因素极端顶点混料均匀试验设计,遵循三因素总和为 1 的原则,生成极端顶点随机化生成表,见表 2。根据所得试验结果,对  $Y_1$ 、 $Y_2$  及  $Y_3$  的数据进行回归拟合,见表 3。通过 Minitab 19 软件对各参数进行拟合,得回归方程  $Y_1=-82.500 3X_1-0.523 5X_2-0.533 4X_3+1.037 0X_1X_2+1.064 5X_1X_3(R^2=0.889 5)$ 、 $Y_2=-345.911X_1+12.559X_2-4.42X_3+4.028X_1X_2+4.469X_1X_3(R^2=0.557)$ 、 $Y_3=129.462X_1-1.609X_2-2.222X_3+0.532X_1X_2-1.061X_1X_3(R^2=0.966 9)$ 。 $Y_1$  及  $Y_3$  回归模型方差分析结果表明,该模型均具有显著性( $P<0.05, P<0.01$ )。根据系数绝对值的大小,判断各因素对  $Y_1$  和  $Y_3$  的影响排序均为  $X_1>X_3>X_2$ 。

**2.4.2 响应优化与预测** 为了进一步探索 MAT-LLCN 各成分比例与  $Y_1$ 、 $Y_3$  的关系,以  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  分别为 10%、6%、84% 时为参考基准,绘制 Cox 响应跟踪曲线,见增强出版附加材料,以明确各因素对包封率、黏度值的影响趋势。结果发现增加或减少 MAT 的用量对  $Y_1$  和  $Y_3$  的影响较小。采用 Minitab 19 绘制  $Y_1$  的混合等值线图,见增强出版附加材料。结果发现 GMO+P407 用量 9.62%~13.31%、MAT 用量 2%~10% 时,制得的 MAT-LLCN 包封率均 >80%;GMO+P407 用量 8.27%~14.04%、MAT 用量 2%~10% 时,制得的 MAT-LLCN 黏度范围 200~400 mPa·s。采用 Minitab 19 软件的响应优化器进行 MAT-LLCN 处方优化,以包封率为响应值,设置下限 0,目标值为

表2 MAT-LLCN 处方极端顶点设计试验分析

Table 2 Extreme vertex mixture design of MAT-LLCN formulation

标准序	运行序	点类型	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$Y_1$	$Y_2$	$Y_3$
			GMO+P407用量/%	MAT用量/%	水用量/%	包封率/%	粒径/nm	黏度/mPa·s
8	1	-1	8	8	84	80.98	151.90	190.44
4	2	1	14	10	76	79.22	235.70	579.63
6	3	-1	8	4	88	70.27	98.59	63.09
7	4	-1	12	4	84	86.90	180.30	385.06
9	5	-1	12	8	80	77.54	331.10	364.69
2	6	1	14	2	84	80.63	188.20	368.25
1	7	1	6	2	92	55.25	92.10	1.29
5	8	0	10	6	84	84.14	338.50	216.44
3	9	1	6	10	84	50.69	194.00	67.38

注:区组均为1

表3 混料均匀设计的回归分析及方差分析

Table 3 Regression and variance analysis of extreme vertex mixture design results

来源	$f$	$F$			$P$		
		$Y_1$	$Y_2$	$Y_3$	$Y_1$	$Y_2$	$Y_3$
回归	4	8.05	1.26	29.2	0.034	0.415	0.003
线性	2	5.46	0.72	0.21	0.072	0.540	0.817
二次	2	5.91	0.56	0.67	0.064	0.610	0.563
$X_1X_2$	1	8.32	0.66	0.03	0.045	0.463	0.864
$X_1X_3$	1	11.80	1.09	0.18	0.026	0.356	0.695
合计	8						

86%,权重、重要度均设定为1。以黏度为响应值,设置下限100 mPa·s,目标值200 mPa·s,权重、重要度均设定为1。得最佳处方GMO+P407-MAT-水(11.49%:2%:86.51%), $Y_1$ 和 $Y_3$ 预测值分别为86.79%、249.959 mPa·s。

**2.4.3 模型验证** 为验证实验结果的准确性,考虑到称量便捷性,调整处方为GMO+P407-MAT-水(11%:2%:87%),在此条件下进行3次重复验证,实验数据见表4。结果平均包封率82.93%,平均黏度251.52 mPa·s,均与理论值接近,说明经混料均匀设计优选的处方稳定可行。

表4 MAT-LLCN 处方验证试验( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 4 Validation of MAT-LLCN formulation ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

No.	平均粒径/nm	PDI	包封率/%	黏度/mPa·s
1	102.80±1.20	0.156±0.010	82.91±0.61	269.19±0.98
2	100.00±0.42	0.126±0.013	83.08±0.94	238.00±1.15
3	104.10±0.46	0.137±0.007	82.81±0.21	247.38±0.72

**2.4.4 MAT-LLCN 载药量考察** 由混合等值线图(增强出版附加材料)可知,载药量对LLCN的包封

率、粒径及黏度影响不大,故对载药量进行进一步考察,探讨其提高载药量的可行性。按2.4.3项下处方,固定GMO-P407(9:1)用量为11%,分别考察MAT加入量为处方量2%~20%时载药量对纳米粒包封率、粒径及黏度的影响,见表5。结果在实验过程中发现,当载药量>15%时,样品放置过程中有MAT析出,表明药物超载;载药量在2%~12%时,均可形成较为稳定的LLCN体系,随着载药量的增加,纳米粒黏度呈增大趋势,包封率亦呈增大趋势,但当载药量达到9%时,继续增大载药量,包封率则略有下降。

**2.5 MAT-LLCN 凝胶制备** 目前常用的凝胶基质有卡波姆、泊洛沙姆、羟丙基甲基纤维素、壳聚糖等。由于MAT-LLCN制备过程中已加入大量泊洛沙姆,继续选用泊洛沙姆可能引起LLCN结构变化;而采用羟丙基甲基纤维素为凝胶基质时,样品黏度太大且易分层;故选择有一定弱酸性的卡波姆940作为凝胶基质,对其用量进行筛选。取载药量为10%的MAT-LLCN 50 g,与预溶胀好的3%卡波姆940凝胶(记作C相)混合,调整C相的加入量,使终产品中卡波姆940的用量为0.4%~1.2%,搅拌均匀,用10% HCl调节pH至6.0~7.0,加水补足至总量。由表6可知,随着卡波姆用量的增加,黏度呈上升趋势。从外观性状可知,除卡波姆940用量为0.4%时凝胶较稀,不利于药物在皮肤滞留外,其他各组所制得的凝胶黏度均较为合适,涂展性良好,故暂定卡波姆940用量为总处方量的0.6%。

综上所述,最终确定的MAT-LLCN凝胶制备工艺为称取总处方量5.5%的GMO-P407(9:1)及处方量MAT原料药,60℃加热搅拌至呈均匀的单相溶液,得A相;取总处方量4%的纯净水,预热至60℃

表5 MAT-LLCN载药量考察( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 5 Investigation of drug loading of MAT-LLCN ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

载药量/%	外观性状	平均粒径/nm	PDI	包封率/%	黏度/mPa·s
2	白色半透明凝胶	104.10±0.46	0.137±0.007	82.81±0.21	247.38±0.72
5	透明不流动凝胶	118.80±3.73	0.084±0.005	83.99±0.29	248.00±38.28
9	黄色凝胶	250.70±6.05	0.273±0.008	91.36±0.42	269.22±14.36
12	黄色凝胶	463.70±3.40	0.273±0.007	88.86±0.38	387.67±37.42
15	上层白色溶液,下层有药物析出				
20	上层淡黄色油状溶液,下层有药物析出				

注:载药量为15%、20%时无法形成LLCN,故未测定相关参数

表6 卡波姆940用量对MAT-LLCN凝胶性状的影响

Table 6 Effect of carbomer 940 dose on properties of MAT-LLCN gels

卡波姆940/%	黏稠度	黏度( $\bar{x} \pm s, n=3$ )/mPa·s
0.4	较稀	576.71±22.01
0.6	适中	920.30±3.47
0.7	适中	1 159.95±0.22
1.0	黏稠	2 339.50±2.24
1.2	黏稠	3 412.50±12.09

(B相),缓慢加入A相中,600 r·min<sup>-1</sup>磁力搅拌2 h,得MAT-LLC;继续加水至总重为总处方量的50%,搅拌均匀,室温1 200 bar均质6次,得MAT-LLCN。加入总处方量20%的预溶胀好的3%卡波姆940凝胶,搅拌均匀,10% HCl调节pH至6.0~7.0,加水补足总质量,搅拌均匀,即得MAT-LLCN凝胶。

## 2.6 MAT-LLC结构表征

**2.6.1 偏光显微镜(PLM)检视**<sup>[26]</sup> 分别取少量空白LLC和MAT-LLC,均匀涂布于载玻片上,用盖玻片压紧,置PLM下观察其光学性质,结果发现空白LLC与MAT-LLC在PLM下均为暗视野,无双折射现象,与LLC各向同性光学性质相符<sup>[27]</sup>,见增强出版附加材料。表明其可能为LLC,为进一步确认其结构,采用小角X射线散射(SAXS)加以确认。

**2.6.2 SAXS**<sup>[16]</sup>测定 取适量MAT-LLC,置SAXS仪检测室,抽真空至1×10<sup>-5</sup> Pa后,于25℃测定[X射线光源为Cu-Kα辐射(0.154 18 nm),管压40 kV,管流40 mA。样品照射时间10 min,以铝箔为载体,用影像板记录散射信息]。将散射强度(I)对散射因子(q)作图,见增强出版附加材料。结果发现MAT-LLC散射峰位分别为0.429 5、0.602 0、0.768 1 nm<sup>-1</sup>,其散射因子比值q<sub>1</sub>:q<sub>2</sub>:q<sub>3</sub>=√2:√4:√6,为体心型(Im3m)LLC的典型SAXS特征峰<sup>[27]</sup>。

**2.7 体外释放试验** 取卡波姆940 0.6 g,加水90 g

溶胀过夜,加入处方量MAT,搅匀,10% HCl调节pH至6.0~7.0,继续加水至总重100 g,制得载药量分别为1%、4%的MAT普通凝胶。同时,按2.5项下方法制备载药量分别为1%、4%的MAT-LLCN凝胶。

**2.7.1 累积释放率(Q<sub>n</sub>)考察** 采用改良Franz扩散池法<sup>[28-29]</sup>,扩散池体积12 mL,扩散面积1.767 cm<sup>2</sup>,将透析膜(截留相对分子质量3.5 kDa)固定于供给池和接收池之间,分别取4% MAT-LLCN凝胶、4% MAT普通凝胶各0.2 g,平行6份,以生理盐水为溶出介质,(32±0.5)℃恒温水浴搅拌(600 r·min<sup>-1</sup>),分别于0.5、1、2、4、8、12、24 h定时取样,每次取接收液12 mL,同时补加32℃的等量新鲜生理盐水。接收液经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,按2.1.1项下色谱条件测定MAT含量,计算各时间点Q<sub>n</sub>。以Q<sub>n</sub>对时间(t)作图,见图2。结果发现上述2种凝胶均在4 h后MAT释放达到平台期,此时MAT累积释放率分别为83.54%、75.22%。2种凝胶之间释放曲线无明显差别(P=0.937),相似因子(f<sub>2</sub>)为59.236。

$$Q_n = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / W_{总} \quad (1)$$

$$Q = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A \quad (2)$$

式中Q表示一定时间内单位面积累积释放量,V为接收池体积,C<sub>n</sub>为第n次取样时接收液中药物质量浓度,V<sub>i</sub>为第i次取样时体积,C<sub>i</sub>为第i次取样时接收液中药物质量浓度;W<sub>总</sub>表示加入样品中MAT的质量;A为有效扩散面积。

**2.7.2 体外释药模型拟合** 采用DDSolver 1.0软件对累积释放曲线进行释放动力学方程拟合,分别选择零级动力学模型、一级动力学模型、Higuchi模型、Weibull模型、Hixson-Crowell模型及Quadratic模型进行拟合,见表7。其中R<sup>2</sup>越接近1,表示曲线与模型的拟合度越高;赤池信息准则(AIC)值越小表明偏差越小、越精准<sup>[30]</sup>。结果显示,MAT-LLCN凝胶符合Weibull模型,该模型描述为Q<sub>n</sub>=100×{1-exp[-

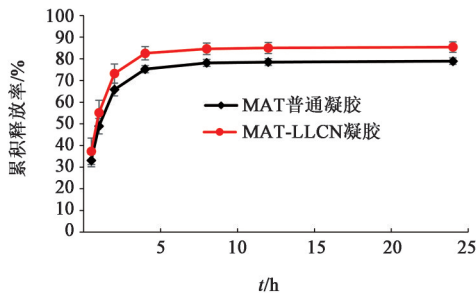


图2 MAT-LLCN凝胶与MAT普通凝胶的累积释放曲线( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 2 Cumulative release curves of MAT-LLCN gels and MAT ordinary gels ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

$(t-T_l)^b/a$ }, 式中  $T_l$  为药物溶出过程中的滞后时间, 参数  $a$  为描述时间依赖性的比例参数, 参数  $b$  为描述溶出曲线的形状参数。PAPADOPOULOU 等<sup>[31]</sup>总结了 Weibull 方程中的  $b$  与药物扩散机制的关系, 认为  $b < 0.75$  时, 药物释放机制遵循 Fick 扩散定律; 当  $0.75 \leq b \leq 1$  时, 表明药物释放为复合机制, 此时可用 Peppas 方程来描述整个释放过程;  $b > 1$  为 S 形曲线, 表示其为复杂释放机制, 存在明显拐点。MAT-LLCN 凝胶体外释放的  $b < 0.75$ , 表明其释放机制遵循 Fick 扩散定律, 即释放速率与药物浓度有关。

表7 MAT-LLCN凝胶的体外释放动力学方程拟合

Table 7 *In vitro* release kinetic equation fitting of MAT-LLCN gels

释放模型	拟合方程	AIC 值	$R^2$
零级动力学	$Q_n = 61.619 + 1.396t$	54.06	0.394
一级动力学	$Q_n = 100 \times \{1 - \exp[-0.278(t + 1.674)]\}$	48.93	0.709
Higuchi	$Q_n = 49.481 + 9.616t^{0.5}$	51.30	0.592
Hixson-Crowell	$Q_n = 100 \times \{1 - [1 - 0.038(t + 5.074)]^3\}$	50.69	0.626
Weibull	$Q_n = 100 \times \{1 - \exp[-(t - 0.467)^{0.249}/0.924]\}$	38.03	0.954
Quadratic	$Q_n = -0.002(t + 7.085)^{0.5} + 0.084(t + 7.085)$	50.10	0.709

## 2.8 体外透皮试验<sup>[32-33]</sup>

**2.8.1 离体鼠皮的制备** 取 SD 大鼠, 剃刀剃净腹毛, 注意不要损伤皮肤, 采取颈椎脱臼法处死, 立即手术剥离腹部皮肤, 小心剔除皮下脂肪及黏连物, 生理盐水清洗干净, 4℃冰箱保存备用。

**2.8.2 体外透皮试验** 采用改良 Franz 扩散池。取 2.8.1 项下处理好的大鼠皮肤, 裁成近圆形(面积略大于扩散池扩散面积), 真皮层朝向接收池侧, 固定于 Franz 扩散池(扩散面积为 1.767 cm<sup>2</sup>, 扩散体积 12 mL)。以生理盐水为接收介质, 于(32±0.5)℃恒温水浴搅拌(600 r·min<sup>-1</sup>), 分别于 1、2、4、8、12、24 h

定时取样, 每次取样 12 mL, 同时补加等量 32℃ 的新鲜生理盐水。按 2.1.1 项下色谱条件测定各取样点接收介质中 MAT 的含量, 计算单位面积累积透过量, 以药物的单位面积累积透过量对  $t$  作图, 并对曲线中的直线部分进行线性回归, 直线的斜率即为稳态透皮速率( $J_s$ )。

**2.8.3 角质层中 MAT 滞留量( $Q_{s-角质层}$ )的测定** 体外透皮试验结束后取下试验皮肤, 取棉签蘸取生理盐水擦拭皮肤表面, 以除去表面残留药物, 吸干水分, 用 3M 胶带粘贴附毛侧皮肤, 丢弃第 1 次粘附胶带层, 从第 2 次起, 累积粘贴 15 次, 将粘贴后的胶带剪碎, 置于称量瓶中, 加入甲醇 5 mL, 称定质量, 超声提取 30 min(250 W, 40 kHz), 放冷后加甲醇补足减失的质量, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按 2.1.1 项下条件测定 MAT 含量, 按公式  $Q_s = V \times C/A$  计算  $Q_{s-角质层}$ , 式中  $A$  为有效扩散面积,  $V$  为样品体积,  $C$  为测得的 MAT 质量浓度。

**2.8.4 大鼠活性表皮及真皮层  $Q_s(Q_{s-活性表皮+真皮层})$  的测定** 将去除角质层后的皮肤剪碎, 置于 50 mL 离心管中, 加甲醇 5 mL, 精密称定, 探头细胞破碎仪超声[功率 300 W, 时间 6 min(工作 2 s, 间歇 2 s)], 加甲醇补足减失的质量, 取上清液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 按 2.1.1 项下条件测定, 计算  $Q_{s-活性表皮+真皮层}$ 。

**2.8.5 MAT-LLCN 凝胶与 MAT 普通凝胶体外透皮性能比较** 取预处理的大鼠腹部皮肤, 称取载药量分别为 1%、4% 的 MAT-LLCN 凝胶、MAT 普通凝胶各 0.3 g, 精密称定, 分别涂于皮肤表面, 平行 6 份, 按 2.8.2 项下方法进行体外透皮试验, 实验结束后取下试验皮肤, 测定  $Q_{s-角质层}$ 、 $Q_{s-活性表皮+真皮层}$ , 计算 24 h 单位面积累积透过量  $Q_{24h}$  及  $J_s$ , 见表 8 和图 3。由图 3 可知, 同等载药量的 2 种凝胶的  $f_2$  均 > 50, 载药量分别为 4%、1% 时的  $f_2$  分别为 74.02、67.28, 表明 MAT-LLCN 凝胶与 MAT 普通凝胶之间释放行为相似。但对比累积透过曲线可知, MAT-LLCN 凝胶药物累积透过量明显高于同等载药量的普通凝胶。且随着 MAT-LLCN 凝胶载药量的升高, 药物累积透过量亦增高, 提示载药量越高, 越有利于药物的透皮吸收。4% MAT-LLCN 凝胶的  $Q_{s-角质层}$ 、 $Q_{s-活性表皮+真皮层}$  均明显高于同等载药量的普通凝胶,  $P$  分别为 0.025 1、0.000 2; 但当载药量为 1% 时, MAT-LLCN 凝胶仅  $Q_{s-活性表皮+真皮层}$  明显高于普通凝胶, 二者  $Q_{s-角质层}$  不具有明显差异,  $P$  分别为 0.023 7、0.24。

经拟合, 4% MAT-LLCN 凝胶经皮渗透行为符合一级方程, 即  $Q_n = 100 \times \{1 - \exp[-0.018(t - 1.157)]\}$

表8 MAT-LLCN凝胶与MAT普通凝胶的渗透动力学参数( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 8 Permeation kinetic parameters of MAT-LLCN gels and MAT ordinary gels ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

制剂	$Q_{24h}/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$	稳态释放方程	$R^2$	$J_s/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	$Q_{s-角质层}/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$	$Q_{s-活性表皮+真皮层}/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$
1% MAT-LLCN凝胶	653.34±164.32	$Y=27.870X-71.123$	0.959 8	27.870	6.76±3.50	51.27±13.18
1% MAT普通凝胶	454.50±219.97	$Y=19.562X-40.561$	0.973 4	19.562	4.32±1.41	37.66±10.79
4% MAT-LLCN凝胶	2 229.13±558.52	$Y=97.692X-67.883$	0.992 4	97.692	93.83±57.66	345.28±75.33
4% MAT普通凝胶	1 671.69±276.62	$Y=72.002X-17.167$	0.994 2	72.002	19.19±6.96	163.76±56.92

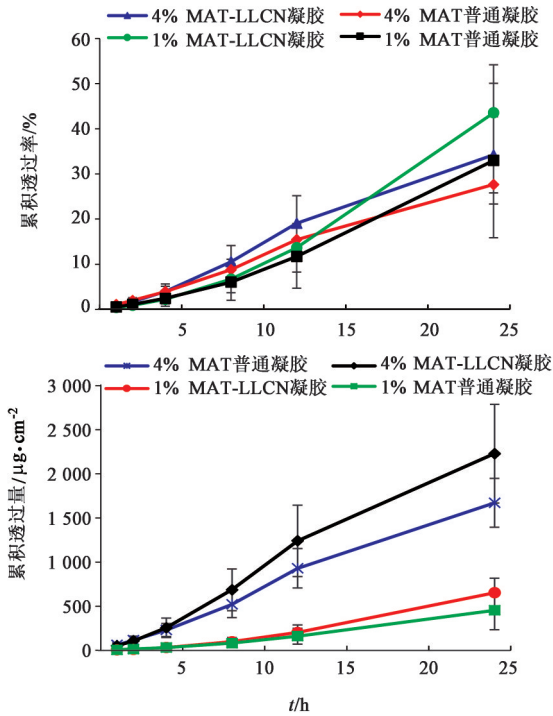


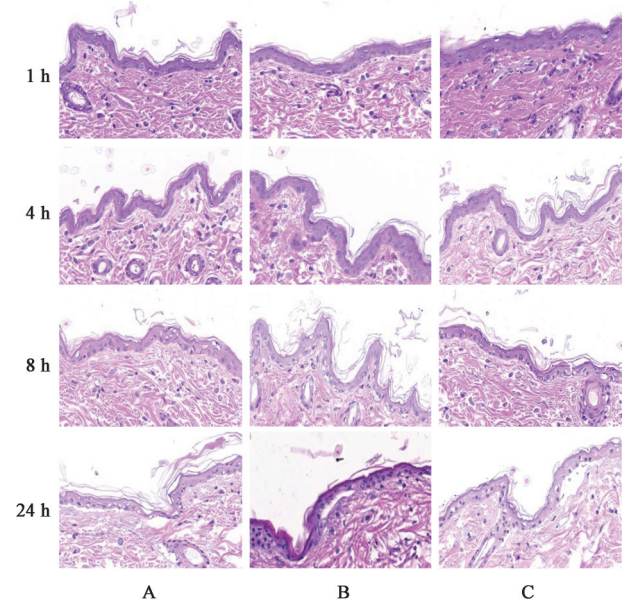
图3 MAT-LLCN凝胶与MAT普通凝胶的累积透过曲线( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Fig. 3 *In vitro* cumulative penetration curves of MAT-LLCN gels and MAT ordinary gels ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

( $R^2=0.992 4$ ),说明药物跨皮肤转运的速度与药物浓度成正比;而1% MAT-LLCN凝胶经皮渗透行为符合零级释放方程, $Q_n=-4.811+1.886t$ ( $R^2=0.950 0$ ),表明载药量不同,药物的释放机制存在差异。对比4% MAT-LLCN凝胶体外释放与体外透皮方程,二者释放机制均符合Fick定律,表明MAT-LLCN凝胶在透析膜与大鼠皮肤中的跨膜释药行为较为一致,但由于皮肤存在明显的屏障效应,故体外透皮试验的 $Q_n$ 远低于体外释放试验。

**2.8.6 皮肤HE染色** 为探究MAT-LLCN凝胶体外透皮机制,采用HE染色观察体外透皮不同时间点大鼠皮肤的结构变化。取处理好的SD大鼠腹部皮肤,分别取等量生理盐水、4% MAT-LLCN凝胶、4% MAT普通凝胶涂抹于大鼠皮肤表面,按2.8.2项下条件进行体外透皮试验,于1、4、8、24 h取下各组皮肤,每个取样点平行3份,用生理盐水冲洗除去皮肤

表面残留药物,滤纸吸干表面溶剂,于病理组织固定液中保存,切片,HE染色,显微镜下观察皮肤结构,见图4。结果发现生理盐水组大鼠皮肤在8 h内,皮肤分层结构清晰,角质层紧密排列,表明8 h内皮肤状态较好。MAT普通凝胶体外透皮4 h后,大鼠角质层结构疏松,而MAT-LLCN凝胶体外透皮处理1 h,则可以观察到角质层结构疏松现象,表明MAT-LLCN凝胶较普通凝胶能够更为快速地打开皮肤角质层屏障,这可能是由于MAT-LLCN凝胶促进药物吸收的原因。体外透皮24 h后,生理盐水组与4% MAT普通凝胶组表皮与真皮层之间出现明显间隙,基底细胞排列紊乱,真皮层胶原纤维排列松散,细胞间隙增大,表明真皮层皮肤结构出现明显损伤;而4% MAT-LLCN凝胶组真皮层胶原纤维排列仍较为规则,细胞间隙较少,提示MAT-LLCN凝胶具有一定的生物亲和性,有利于维持深层皮肤细胞的结构稳定。



注:A.生理盐水组;B.4% MAT-LLCN凝胶组;C.4% MAT普通凝胶组

图4 体外透皮不同时间皮肤的显微结构观察(HE,×40)

Fig. 4 Microstructure observation of skin at different times of *in vitro* transdermal (HE,×40)

**2.8.7 数据处理** 采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析,两两比较采用最小显著性差异法(LSD)检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

### 3 讨论

本实验制得了高载药量的MAT-LLCN,载药量最高可达12%,明显高于文献报道水平。与已报道的MAT-LLCN(载药量1%)相比,本实验提升载药量的关键步骤为药物的加入方式<sup>[18]</sup>。实验初期曾尝试将MAT溶于乙醇/水相中,发现其溶解度有限,不利于提高载药量,后经实验证实,将MAT溶解于油相中可制得载药量更高的均一、透明的LLCN。关于MAT-LLCN载药量与包封率的关系,本文研究发现当载药量在9%以内时,包封率随载药量的增大而略有升高,但当载药量 $>9\%$ 时,包封率略有下降但不明显。同时,还发现随着载药量的升高,粒径亦呈增大趋势,推测药物的加入可能影响了脂质双分子层的结构,使其脂质空间变大,从而提高载药量,该推测有待对LLC内部结构进行深入研究后加以验证。

本文采用改良Franz扩散池法对MAT-LLCN凝胶与MAT普通凝胶的体外透皮吸收行为进行比较,结果表明4% MAT-LLCN凝胶的 $Q_{s-活性表皮+真皮层}$ 、 $Q_{s-角质层}$ 分别是相同载药量普通凝胶的2.11、4.89倍,且差异均具有统计学意义( $P<0.05$ , $P<0.01$ );但比较载药量为1%时这2种制剂的差异,则仅 $Q_{s-活性表皮+真皮层}$ 有差异,提示LLCN应用于凝胶制剂,在高载药量时优势更为明显。通过对释放过程进行拟合,推测药物浓度差应为药物扩散的主要限速因素,较高的药物浓度有利于药物的跨膜转运,并在皮肤深层达到较高的贮库浓度。该实验结论与文献“LLCN呈现促渗和皮肤贮库的双重效应”<sup>[17]</sup>的结论一致。有研究表明LLCN通过扰乱皮肤角质层结构的有序性,促使药物进入并穿过皮肤角质层形成细胞间的微小间隙,从而提高药物的 $Q_{s-角质层}$ <sup>[34]</sup>。在本实验中也观察到了类似现象,MAT-LLCN凝胶可引起皮肤角质层细胞脱落,加快药物透过皮肤屏障,实现促渗作用。更为值得关注的是,体外透皮24 h后,4% MAT-LLCN凝胶组皮肤真皮层细胞结构仍较为规则,提示MAT-LLCN具有更好的生物亲和性,这可能与特殊的脂质双层结构与皮肤结构更为接近有关。

关于凝胶基质材料的选择,卡波姆940除表现出较好的成型性外,针对本文选择的模型药物

MAT,由于卡波姆940呈酸性,可中和一部分药物自身的碱性,从而减少pH调节剂的使用,进而降低处方的离子强度。由于目前中药凝胶剂普遍存在基质辅料离子耐受性差的问题,因而在处方设计中,充分考虑药物-辅料的相互作用,降低离子强度是一条切实可行的提高中药凝胶剂稳定性的路径。

关于本研究的剂型设计,是因为凝胶剂具有较高黏度,相较于LLCN更有利于药物在皮肤的滞留,为药物的持续释放提供了可能,此外,相较LLC直接给药,凝胶剂延展性更好,可改善LLC肤感差的缺点。因此将LLC与凝胶相结合,可以充分发挥这2种剂型的优势。同时,本文研究结果证实了LLCN凝胶的优势,展现出良好的前景。但目前LLCN在药物递送领域的应用仍较少,经验不够丰富,可选择的辅料种类也较为局限,特别是关于LLCN递送系统的药物与机体相互作用特点、作用机制的研究更是严重不足,上述问题的攻克对于LLCN技术的推广、应用至关重要,尚有待深入研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

### [参考文献]

- [1] 李丹,平全,张楠森. 苦参碱类生物碱的研究进展及临床应用[J]. 中草药,1996,27(5):308-311.
- [2] 张俊青. 苦参碱类生物碱的结构修饰[D]. 西安:陕西师范大学,2008.
- [3] 胡美薇,傅丽娟,范翠华,等. 苦参碱诱导人白血病耐药细胞K562/IM自噬和凋亡的研究[J]. 中国中西医结合杂志,2018,38(2):213-218.
- [4] 张明发,沈雅琴. 苦参碱和氧化苦参碱对泌尿系统肿瘤的药理作用研究进展[J]. 抗感染药学,2020,17(10):1399-1404.
- [5] 王晓彤,林海雄,张韧. 苦参碱注射液治疗慢性乙型肝炎患者的临床疗效及安全性Meta分析[J]. 中药药理与临床,2017,33(2):170-175.
- [6] 孙子荔,柳思宇,邹鸣立,等. 中药防治病理性瘢痕的作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(17):225-234.
- [7] 方晓琳,李海舰,赵秋婵,等. 基于PI3K/AKT信号通路探讨苦参碱对人皮肤鳞状细胞癌A431细胞的作用研究[J]. 广东药科大学学报,2020,36(4):504-508.
- [8] 朱思庆,庞璐璐,马金秋,等. 苦参凝胶对小鼠慢性湿疹的治疗作用[J]. 国际药学研究杂志,2020,47(9):52-58.
- [9] 孙创斌,胡晋红,朱全刚,等. 苦参碱对皮肤角质形成细胞IL-17R、p-p38 MAPK和炎症因子的影响[J]. 中

- 国药学杂志,2010,45(7):506-509.
- [10] 作文英,黄洁,刘硕,等. 苦参碱隐形脂质体的药代动力学和组织分布研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(6):751-755.
- [11] 赵宁,李伟泽,潘紫娟,等. 苦参碱纳米柔性脂质体的性质及其体外释放行为考察[J]. 中华中医药杂志,2016,31(3):1052-1055.
- [12] 李伟泽,赵宁,陈卓,等. 基于白及多糖的苦参碱微球的制备[J]. 药学学报,2018,53(2):284-290.
- [13] 王森. 苦参碱磷脂复合物眼用原位凝胶给药系统的研究[D]. 成都:成都中医药大学,2012.
- [14] 袁超,陈龙华,付正,等. 苦参碱微乳水凝胶的质量评价及透皮研究[J]. 中国药师,2017,20(6):1001-1004.
- [15] 张亚军,杨建宏,韩娇娇,等. 在体皮肤微透析技术评价苦参碱传递体的透皮释药性能[J]. 中草药,2013,44(23):3341-3345.
- [16] 刘丽丽,陈谢谢,陈家乐,等. 脂质立方液晶纳米粒的研究进展及其在经皮给药系统中的应用[J]. 中国药理学杂志,2017,52(12):1005-1010.
- [17] 刘丽丽,史畑女,方蕾,等. 马钱子总碱-白芍总苷脂质立方液晶纳米粒制备及体外评价[J]. 中草药,2019,50(17):4076-4083.
- [18] 田圆. 苦参碱立方液晶纳米粒的制备工艺及对增生性瘢痕抑制作用的初步研究[D]. 湛江:广东医学院,2015.
- [19] 徐和,戴领,沈成英,等. 苦参碱凝胶剂的制备及体外释药特性考察[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(1):8-11.
- [20] 李素珍,刘为萍,朱静,等. 去甲斑蝥素立方液晶纳米粒制备及体外释放度研究[J]. 中华中医药杂志,2017,32(12):5566-5568.
- [21] 王志宁. 甘油单油酸酯/水立方液晶体系作为药物载体体系的研究[D]. 济南:山东大学,2005.
- [22] 曾令军,房盛楠,张灵娜,等. 盐酸普萘洛尔立方液晶纳米粒的制备及体外评价[J]. 中国药师,2020,23(6):1094-1101.
- [23] 苏旬,贺秀丽,刘秀菊,等. 姜黄素脂质立方液晶纳米粒的制备及理化性质研究[J]. 中药材,2012,35(2):296-299.
- [24] 胡引娣,刘常丽,马晓晶,等. 基于极端顶点混料设计优化茯苓人工菌棒栽培配方研究[J]. 现代中药研究与实践,2020,34(6):1-5.
- [25] 徐静安,许肖丽,陈涛. 第二十一讲 混料配方研究中极端顶点设计的应用解读[J]. 上海化工,2018,43(1):8-14.
- [26] 储晓琴,田春玲,李争光,等. 溶致液晶递药系统表征方法的研究进展[J]. 中国药理学杂志,2019,54(19):1545-1551.
- [27] NAZARUK E, A MAJKOWSKA-PILIP, BILEWICZ R. Lipidic cubic-phase nanoparticles-cubosomes for efficient drug delivery to cancer cells [J]. ChemPlusChem,2017,82(4):570-575.
- [28] RYAN R K, JENNA L H, KAILAS D T, et al. *In vitro* release testing methodology and variability with the vertical diffusion cell (VDC) [J]. Dissolut Technol, 2018,25(3):52-61.
- [29] THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. US Pharmacopeia: National Formulary (USP41-NF36) [M]. Washington: US Pharmacopeia Origination Press,2018:7944-7956.
- [30] 陈昊,田效志,马盼盼,等. 复方芩七脉冲胶囊的制备及其释药机制研究[J]. 河南科学,2018,36(12):1941-1946.
- [31] PAPADOPOULOU V, KOSMIDIS K, VLACHOU M, et al. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms [J]. Int J Pharmaceut,2006,309(1/2):44-50.
- [32] 王明硕,杜茂波,沈硕,等. 椒姜凝胶贴膏的体外释药动力学与药效学评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(5):141-147.
- [33] 鄢森,滕健,孙彤彤,等. 电致孔方式对盐酸青藤碱经皮渗透的促进作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(17):146-151.
- [34] 曾令军,张灵娜,陈旭,等. 立方液晶载体在经皮给药系统中的促渗机制研究[J]. 中国药师,2021,24(9):1670-1675.

[责任编辑 刘德文]